

# Capítulo 11

## Estudio del estrés abiótico en plantas

Sandra Hernández Camacho (q.e.p.d.)  
Gloria Viviana Cerrillo Rojas  
*Universidad Autónoma de Durango Campus Zacatecas*

José Francisco Morales Domínguez  
*Departamento de Química del Centro de Ciencias Básicas, Universidad  
Autónoma de Aguascalientes*

### Resumen

Los factores ambientales desfavorables como la deshidratación, salinidad, elevadas o muy bajas temperaturas, entre otros, limitan el crecimiento y desarrollo de muchas especies vegetales alrededor del mundo, causando incluso la muerte. Sin embargo, las plantas han desarrollado mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares que les permiten restablecerse y tolerar condiciones de diferentes tipos de estrés. Estas especies tolerantes al estrés son de gran interés como modelos de estudio para conocer los mecanismos genéticos que les confieren esa resistencia y se han realizado diversas investigaciones encaminadas a este propósito. Por ejemplo, el análisis e identificación de genes responsables en la tolerancia al frío, sequía, calor, metales pesados entre otros y posteriormente su aislamiento e introducción

y expresión en plantas de interés agrícola. El establecimiento *in vitro* de plantas tolerantes al estrés abiótico ha permitido identificar mejor los genes asociados a este tipo de estrés, no obstante, aún falta camino por recorrer y es necesario continuar identificando los genes codificantes para enzimas clave en las rutas metabólicas asociadas con la resistencia a distintos factores ambientales adversos. En este capítulo se aborda algunos tipos de estrés abiótico en plantas y sus genes asociados, así como su identificación y estudios de expresión.

## Antecedentes

Los diferentes tipos de estreses como la sequía, la salinidad, el frío, las altas temperaturas y los metales pesados, causan cerca del 50% la reducción en la producción de cultivos en todo el mundo. Las plantas al ser organismos sésiles están continuamente expuestas a diversos cambios en las condiciones ambientales. De esta manera, las variaciones en el medio ambiente que involucran tanto el estrés biótico como abiótico tienen efectos negativos en la mayoría de los cultivos económicamente importantes.

En especial el estrés abiótico puede resultar en múltiples pérdidas para las plantas y los cultivos agrícolas, ya que están expuestas a un rango de diferentes tipos de estreses en forma individual o de manera simultánea; como son la alta salinidad y calor, deshidratación y calor, metales pesados y calor, que han demostrado dañar más a la planta que un solo tipo de estrés a la vez (Fig. 11.1). Por lo tanto, a través del tiempo, las plantas han desarrollado procesos adaptativos, tanto a nivel molecular, como celular y sistémico, los cuales contribuyen a incrementar la tolerancia del estrés (Fig. 11.2).

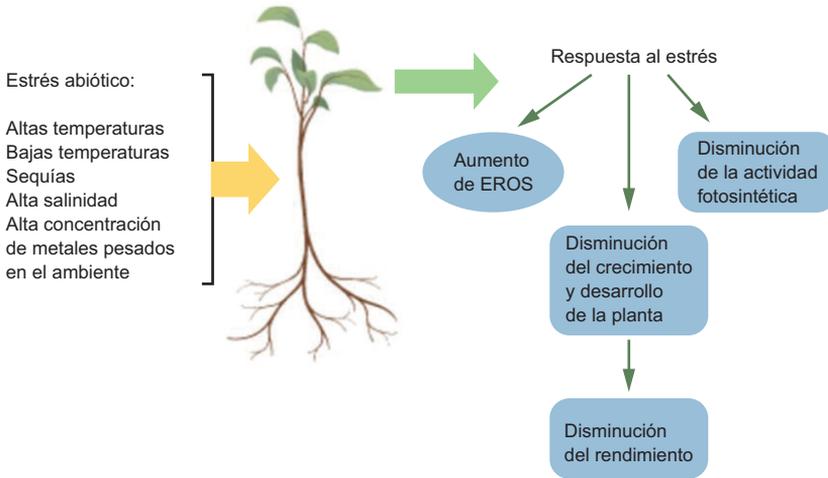


Figura 11.1. Efectos del estrés abiótico en plantas. Las altas y bajas temperaturas, la sequía, salinidad y alta concentración de metales en el medio ambiente, inducen una respuesta en la planta tales como la generación de especies reactivas de oxígeno (EROS), disminución de la fotosíntesis, crecimiento y desarrollo y rendimiento en las plantas. Elaboración propia.

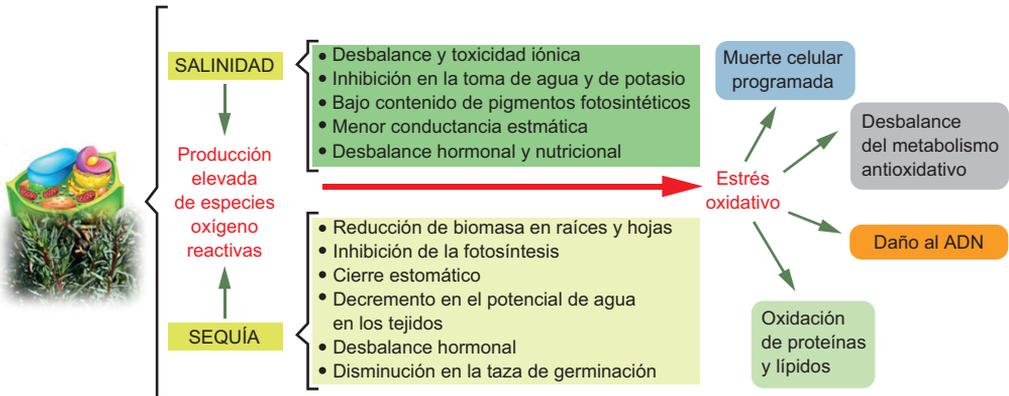


Figura 11.2. Esquema ilustrativo del estrés en plantas causado por salinidad y por sequía. Elaboración propia.

El conocimiento acerca de la respuesta de las plantas ante el estrés abiótico ha avanzado mucho en los últimos años gracias a la secuenciación del genoma de algunas plantas y de varias herramientas de genómica y proteó-

mica. Sin embargo, los mecanismos de señalización del estrés abiótico han probado ser muy complejos y hay mucho que aprender todavía. A la fecha, solamente unos cuantos genes que juegan un rol crítico en la adaptación de la planta al estrés han sido plenamente identificados. Pocas rutas mediadoras de respuesta a estrés han sido descritas por completo. En este capítulo se verán algunos de los principales genes y metabolitos que intervienen en los diferentes tipos de estrés abiótico permitiendo que las plantas puedan resistir las condiciones adversas y sobrevivir.

## Compuestos bioquímicos y moleculares como respuesta

### Metabolitos primarios y secundarios

Los principales metabolitos primarios y secundarios que se sintetizan y se acumulan en respuesta al estrés por calor en plantas son: la prolina (Pro), la glicina betaína (GB), carbohidratos tales como azúcares solubles o alcoholes de azúcar (polioles) o compuestos de amonio terciario y cuaternario. Estos compuestos también conocidos como osmolitos aumentan la estabilidad de las proteínas y estabilizan la estructura de la bicapa de membrana cuando las plantas están bajo estrés térmico, por lo tanto, su acumulación es un mecanismo adaptativo importante de las plantas sometidas a este tipo de estrés (Fig.11.3).

Por ejemplo, se ha observado que en varias plantas la acumulación de Pro, GB y azúcares solubles es necesaria para regular las actividades osmóticas y proteger las estructuras celulares del aumento de las temperaturas y mantener el equilibrio hídrico celular, la estabilidad de la membrana y amortiguar el potencial redox.

Para verificar la protección que brindan los osmoprotectores contra el calor en las plantas, se han realizado varios estudios moleculares, por ejemplo; se desarrollaron plantas transgénicas de tabaco con el gen  $\Delta^2$ -pirrolina-5-carboxilato sintetasa (P5CS) que está involucrado en la ruta biosintética de la prolina. Estas plantas mostraron una mayor acumulación de prolina con un potencial osmótico foliar más negativo y una mayor producción de pigmentos protectores involucrados en el ciclo de la xantofila.

Otro tipo de osmoprotector relacionado con el estrés por calor es la GB. En muchas plantas, se ha visto que la producción de GB en cloroplastos mantiene la activación de la Rubisco y prevé su inactivación térmica. Como ejemplo, en plantas de maíz y caña de azúcar sometidas a altas temperaturas se observó altos niveles de acumulación de GB, mientras que otras plantas como arroz, *Arabidopsis* y tabaco no la producen bajo esas condiciones.

Los metabolitos secundarios como los flavonoides, las antocianinas y los esteroides vegetales, también están involucrados en la respuesta bajo estrés por calor. Existen evidencias en varias plantas como tomate y sandía que demuestran que los compuestos fenólicos se inducen y se acumulan protegiendo a la planta contra compuestos tóxicos. Las antocianinas tienen un papel importante en la disminución del potencial osmótico de las hojas; lo que significa mayor absorción y una menor pérdida de agua por transpiración. Estas propiedades de las antocianinas permiten que las hojas respondan rápidamente ante el estrés por calor o a los cambios bruscos ambientales. Los carotenoides protegen a las plantas de varias tensiones; por ejemplo, las xantofilas, terpenoides como el isopreno o el tocoferol estabilizan y protegen la membrana lipídica. En estudios moleculares, se ha visto que en plantas transgénicas de *Arabidopsis* que sobreexpresan el gen *chyB* que codifica para la  $\beta$ -caroteno hidroxilasa (una enzima activa en la vía biosintética de la zeaxantina) muestra una mayor tolerancia al aumento de la temperatura, ya que se sugiere que la zeaxantina está involucrada en la prevención del daño oxidativo en las membranas.

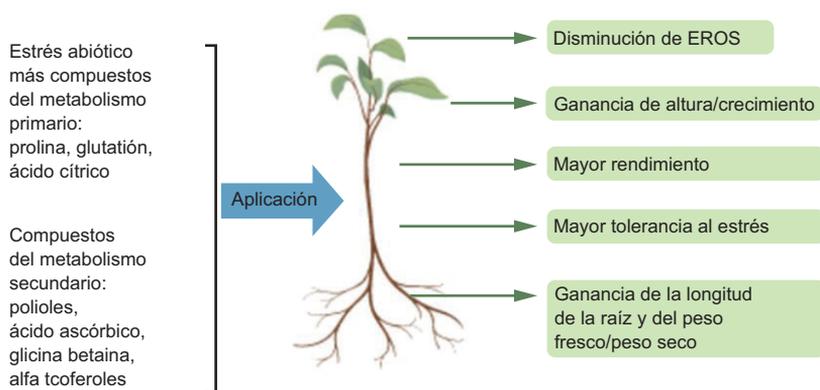


Figura 11.3. Efectos de los metabolitos aplicados a las plantas. Elaboración propia.

## Estrés por calor

En las últimas décadas el cambio climático ha sido un gran problema para la seguridad alimentaria ya que afecta directamente a todas las plantas y en especial a las de cultivo. Se prevé que para la próxima década aumente la temperatura global en un 0.3% lo que provocaría que el estrés por calor sea un importante factor de estrés abiótico global para muchos cultivos. El estrés por calor causa severos daños en el desarrollo, morfología, fisiología, y en las rutas bioquímicas y moleculares de las plantas en todas las etapas vegetativas y reproductivas. Ante esta situación, las plantas responden de manera inmediata e inducen mecanismos de aclimatación evitando el estrés a corto plazo, ya que reorientan sus hojas para crear espacio, aceleran la transpiración para el enfriamiento y alteran la composición lipídica de la membrana. No solo es esta respuesta lo que las plantas hacen sino también exhiben un conjunto característico de respuestas celulares y metabólicas tales como cambios en la organización de las estructuras celulares, disminución en la síntesis de proteínas constitutivas y la transcripción y traducción acelerada de proteínas de choque térmico o Heat Shock Proteins (HSP, por sus siglas en inglés), la producción de fitohormonas como el ácido abscísico (ABA) y antioxidantes y otras moléculas protectoras.

Uno de los síntomas típicos del estrés por calor es la senescencia tisular, que se caracteriza por daño a la membrana asociado con el aumento de la fluidez de los lípidos de membrana, la peroxidación lipídica y la degradación de proteínas en diversos procesos metabólicos. Para mantener la fluidez de la membrana, las plantas aumentan el contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, modulando su metabolismo en respuesta al aumento de las temperaturas. En estos procesos no solo se ve afectada la membrana, sino también la actividad de enzimas involucradas en la acumulación de almidón y la síntesis de sacarosa, mediante la regulación de sus genes específicos.

## Genes relacionados con el estrés por calor

La característica más importante contra el estrés por calor o la termotolerancia es la producción masiva de las proteínas HSP. Sin embargo, como la tolerancia al calor es un carácter multigénico, numerosos rasgos bioquímicos y metabólicos también están involucrados en el desarrollo y mantenimiento de la

termotolerancia: actividad antioxidante, insaturación de lípidos de membrana, expresión y traducción génica, estabilidad de proteínas y acumulación de solutos compatibles. También hay que tener en cuenta que las respuestas de las plantas a las altas temperaturas dependen de los parámetros genotípicos, ya que ciertos genotipos son más tolerantes.

Varios estudios han revelado que también son importantes los factores de transcripción como el factor de transcripción heat shock (transcription factor HSF). Existen varios genes que desempeñan un papel menos crítico ya que su expresión disminuye; entre estos están los HSP101, HSA32, HSFA1, HSFA3, que han demostrado tener poco impacto en la tolerancia al calor. Esto indica que existe una red reguladora compleja que ofrece una protección diferencial contra el estrés por calor. Por ejemplo, en mutantes de *Arabidopsis* se ha visto que en ausencia del factor de transcripción HSFA1, éstas muestran un nivel mínimo pero significativo de termotolerancia adquirida, probablemente debido a la inducción de un pequeño número de genes regulados por otros factores de transcripción como bZIP28. Sin embargo, los HSP son de particular importancia en las reacciones de termotolerancia y actúan como chaperonas moleculares para prevenir la desnaturalización o la agregación de proteínas diana, así como para facilitar el repliegue de proteínas.

También se ha visto que varios tipos de proteasas desempeñan un papel importante para regular las respuestas de las plantas al estrés por calor. Por ejemplo, se ha encontrado que la proteasa FtsH11 de *Arabidopsis* está involucrada en la tolerancia general a las altas temperaturas ya que actúa a través de la degradación de proteínas de la membrana tilacoide no ensambladas. Otro ejemplo es la proteasa HOT5, que codifica un alcohol deshidrogenasa que funciona como nitrosoglutamil reductasa, también es necesario para la supervivencia bajo calor, revelando un posible papel del óxido nítrico (NO) en la termotolerancia y el desarrollo de las plantas.

Otro tipo de proteínas involucradas en la protección contra calor en plantas y en varios tipos de estrés son las proteínas abundantes en embriogénesis tardía (LEA por las siglas en inglés Late Embryogenesis Abundant), la ubiquitina y las dehidrinas que desempeñan un papel importante en la protección contra el calor y el estrés por sequía. Por ejemplo, las proteínas LEA pueden prevenir la agregación y proteger a la enzima citrato sintasa (involucrada en la producción de ATP) de condiciones de deshidratación como el calor y el estrés por sequía. Del mismo modo, la síntesis de ubiqui-

tina y ubiquitina conjugada durante los primeros 30 minutos de exposición confiere un mecanismo importante de tolerancia al calor en el mezquite y la soja que experimentan estrés por calor.

La familia AP2/ERF son factores de transcripción (FTs) específicos de plantas, que incluye a las DREBs (por sus siglas en inglés, dehydration-responsive element-binding protein), que son activadores de la expresión de los genes de respuesta ante estrés abiótico. Por ejemplo, el DREB2 funciona durante la respuesta ante estrés por calor, estrés osmótico y deshidratación mientras que DREB2A y DREB2B son inducidos a temperaturas altas. En *Arabidopsis* DREB2A juega un papel importante: una delección de esta región transforma DREB2A en una forma constitutivamente activa (DREB2A CA), la sobreexpresión de DREB2A CA en *Arabidopsis* transgénica potencia la tolerancia a altas temperaturas.

OsDREB2B codifica FTs tipo DREB2A para mejorar la tolerancia al estrés por calor en arroz. La expresión de OsDREB2B es regulada a través de un splicing alternativo y genera dos tipos de transcritos, nombrados, en su forma funcional, proteínas de longitud completa, y en su forma no funcional, proteínas con codones de paro prematuros.

## Estrés por frío

Se ha observado que un bajo flujo de fotones fotosintéticos puede repercutir en una baja concentración local de azúcares, lo cual puede hacer que ciertos tejidos sean más susceptibles a daño por bajas temperaturas. El daño por congelamiento es debido generalmente a una deshidratación celular acompañada de formación de hielo extracelularmente, en ambos casos el metabolismo celular se ve interrumpido. El gen *OpsDHN1* codifica para una dehidrina que se sobre expresa ante la presencia de frío y su expresión va en aumento cuando hay un proceso de aclimatación. Un ejemplo de la excelente adaptación que pueden tener las plantas ante un estrés por temperaturas extremas son el cactus arborescente sin espinas *Nopalea cochenillifera*, nativo del sur de México y *Opuntia robusta* que es otro cactus arborescente, nativo del centro de México, ambos son importantes para la cosecha de la tuna (fruto comestible); estas especies pueden producir biomasa sustancial en regiones semiáridas sin irrigación. En las especies antes mencionadas, se analizó la tolerancia a distintas

temperaturas en tallos y raíces y el efecto que tiene la aclimatación a la sequía; y se observó la muerte de la mitad de las células de tallos y raíces cuando se expusieron 60 minutos a temperaturas de 7 °C y a 57 °C; sin embargo, cuando se aclimataron paulatinamente a altas y bajas temperaturas, la muerte se dio a los 4 °C y a los 65 °C.

La aclimatación envuelve muchos factores, por ejemplo, se ha observado que la aclimatación de los tallos de *Ferocactus viridescens* y *Opuntia ficus* es similar a la de *N. cochenillifera* y *O. robusta*, pero el rango de tolerancia alcanzado es mucho más amplio en especies como *Opuntia fragilis* que se extiende por norte América hasta Alberta, Canadá, y que cuando es aclimatada puede tolerar 60 minutos a -40°C, que es aparentemente la más alta tolerancia a bajas temperaturas que se ha demostrado que existe en las cactáceas.

También se ha demostrado que la acumulación endógena de ABA se ve modificada con los cambios de temperatura, esto es, la concentración de ABA va aumentando conforme la temperatura va disminuyendo, de tal modo que, a temperaturas de 30 a 20 °C se obtienen cantidades de 0.4 pmol/g de peso fresco de ABA, pero al disminuir la temperatura de 10 a 0 °C, el peso fresco de ABA en *O. ficus-indica* se ha logrado incrementar a 84 pmol/g y a 49 pmol/g en *O. fragilis*. La aplicación exógena por aspersion de ABA, ha logrado que algunas plantas potencien su tolerancia al frío incrementando su resistencia 0.5 °C en *F. viridescens*, 4.1 °C en *O. ficus-indica*, pero en *O. fragilis* el aumento en la tolerancia fue de hasta 23.4 °C.

## Estrés por sequía

En las últimas décadas y como consecuencia del cambio climático en muchas partes del mundo, la escasez de las lluvias ha sido uno de los problemas graves para el desarrollo y crecimiento de las plantas. Sin embargo, bajo condiciones naturales y a lo largo del tiempo, las plantas han sufrido algún tipo de estrés por déficit hídrico lo que ha provocado que algunas adquieran resistencia o tolerancia ante estas situaciones.

Por ejemplo, en el estrés por sequía el decremento de agua ocurre debido a su escasez en el suelo y/o en la atmosfera. A diferencia del estrés por frío, en el que la disminución en el contenido celular de agua ocurre debido a la llamada sequía fisiológica causada por la inhabilidad para transportar el

agua disponible del suelo a las células vivas, principalmente a las de las hojas mesófilas. Mientras que en el estrés causado por salinidad la falta de agua en la célula es consecuencia del decremento del potencial de agua externo que se genera durante el aumento en la concentración de iones (principalmente Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>) y que causa dificultad en la toma de agua por las raíces y su translocación a las actividades metabólicas de las células activas.

De acuerdo a los requerimientos de agua, las plantas se pueden clasificar en tres grupos: 1) las hidrófitas, son las plantas que están adaptadas vivir total o parcialmente sumergidas en agua; con un potencial hídrico negativo entre -5 a -10 bares. 2) las plantas mesófitas son aquellas que están adaptadas a un aporte moderado de agua tolerando potenciales hídricos no más negativos de -20 bares, y 3) si están adaptadas a ambientes áridos tolerando potenciales hídricos no más negativos de -40 bares, entonces son llamadas xerófitas.

Ante la carencia de agua, y a través del tiempo algunas plantas han desarrollado evolutivamente adaptaciones tanto a nivel morfológico como anatómico, celular y molecular, que les permiten sobrevivir en condiciones de constante estrés hídrico. De esta forma, se ha visto que algunas plantas que son capaces de adquirir más agua o retenerla y hacer un uso más eficiente, podrán tener resistencia al estrés por sequía. La aplicación de nuevas tecnologías en biotecnología ha permitido demostrar que durante el estrés por sequía la expresión de genes y la proteómica se ven alterados. Por ejemplo, una de las principales respuestas por parte de la planta es la modificación de la expresión génica, relacionada con la producción de enzimas clave en la vía de síntesis de osmolitos, enzimas antioxidantes, factores de transcripción y otras proteínas involucradas en las respuestas al estrés hídrico.

En las plantas bajo estrés por sequía, hasta 10 % de los genes de su genoma codifican para FTs y se clasifican en diferentes familias de genes como AREB, DREB, MYB, WRKY, NAC y bZIP de acuerdo a las estructuras de sus dominios de unión al ADN. Se ha reportado que varios genes de FT responden al estrés por sequía vía dependiente/independiente de ácido abscísico (ABA). Los genes que son activados por la hormona ABA codifican para proteínas envueltas en la regulación de la transducción de señales y la expresión de genes inducidos por estrés, incluyendo los FT. Estos FT interactúan específicamente con elementos-Cis ubicados en la región promotora de los genes que regulan. Las modificaciones genéticas de la expresión de estos genes regulatorios pueden influenciar grandemente la tolerancia de la planta al estrés,

porque ellos a futuro regularán muchos genes de respuesta a estrés en determinado tiempo.

Por ejemplo, el factor AREB/ABF (AREB: elemento de respuesta y unión a proteínas ácidas; ABFs: factor de unión a AREB) es conocido como el mayor activador transcripcional que modula la expresión de genes durante la señalización dada por ABA cuando está presente un estrés por deshidratación; y proteínas tipo quinasas que son receptores de superficie celular que median la transducción de señales de célula a célula. Un ejemplo de estas proteínas en plantas es el receptor tipo quinasa (RLK receptor like kinase, por sus siglas en inglés) rico en leucinas repetidas (LRR-RLK) la cual contiene tres dominios funcionales: un dominio extracelular que percibe señales, un dominio transmembranal que ancla la proteína con la membrana y un dominio quinasa intracelular que transduce la señal hacia el extremo 3' vía autofosforilación, seguida de la subsecuente fosforilación de un sustrato específico.

Como se mencionó anteriormente, el ABA está relacionado con la expresión diferencial de genes en plantas que están bajo ciertos tipos de estrés. Un tipo de genes que es inducido por el ABA son los que codifican para proteínas intrínsecamente desordenadas (PINEs por sus siglas en inglés). Estas proteínas son importantes para la célula de la planta ya que participan en la respuesta de los organismos a distintos estímulos o condiciones desfavorables para la célula. Entre las proteínas PINEs, se encuentran las hidrofílicas que son proteínas no estructuradas o flexibles que participan en la respuesta a condiciones adversas. La alta producción y acumulación de estas proteínas está asociada notablemente con la exposición de las células o de los organismos a condiciones de limitación de agua, y también en las células que transitan por etapas de desarrollo que involucran un déficit hídrico y en estructuras u órganos bajo deshidratación severa.

Las hidrofílicas, también conocidas como proteínas LEA, fueron primeramente aisladas de semillas de algodón acumuladas en la embriogénesis tardía. Subsecuentemente fueron encontradas en semillas de muchas plantas, así como también en órganos vegetativos, especialmente bajo condiciones de frío, sequía o elevada salinidad. Entre estas proteínas están las LEA D-11 y D-13 y la expresión de sus genes está mediada por el ABA.

## Estudios moleculares de los genes LEA

Se han realizado varios análisis moleculares donde se evidencia directamente el papel en la tolerancia a la sequía de algunas proteínas LEA. Por ejemplo, el gen que codifica para la proteína Em de trigo (LEA 1) que tiene la característica de ser altamente hidrofílica, fue sobre expresado en levadura y confirió resistencia contra diferentes tipos de estrés osmótico. Otro ejemplo es el gen que codifica a la proteína HVA1 de cebada (LEA 3), que fue introducidos mediante ingeniería genética a plantas de arroz y se observó que le confiere resistencia a estrés hídrico y salino. Las levaduras son organismos modelo para analizar la expresión de diferentes genes bajo varios tipos de estrés, por ejemplo, el mismo gen HVA1 fue expresado en levadura, y se observó que le confiere resistencia a estrés salino y a congelamiento. Otros genes como el LE25 de tomate y el LE4, también confirieron a las levaduras resistencia a estrés salino y a congelamiento. Los datos obtenidos a partir de la sobre expresión de éstas y otras proteínas LEA apoyan la hipótesis de que diferentes proteínas LEA desempeñan un papel importante en la protección contra la deshidratación celular. Otro elemento de respuesta a sequía es el CE3 (elemento de acoplamiento) encontrado en varios genes LEA como *BcDh2* y *HVA1* que actúa también como un elemento coactivador de los elementos de respuesta ABRE.

## Estrés por salinidad

La salinización del suelo, es uno de los principales factores abióticos ambientales que causan grandes pérdidas económicas y disminución de crecimiento en la mayoría de los cultivos. Sin embargo, las plantas a través de millones de años de evolución han adquirido diversidad genética y se han adaptado a las perturbaciones ambientales como la elevada salinidad del suelo. La salinidad, puede causar en las plantas importantes desequilibrios (Fig.11.2), y se agrava más este problema cuando se acoplan con otros factores medioambientales que alteran la composición y estructura de la membrana, la alteración de la fotosíntesis el desbalance osmótico y la citotoxicidad iónica del  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{SO}_4^-$ . Particularmente, la citotoxicidad iónica es causada por el remplazo de  $\text{Na}^+$  por  $\text{K}^+$  en reacciones bioquímicas ocasionando cambios conformacionales con

pérdida de función en proteínas, ya que los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  interfieren con las interacciones no covalentes entre los aminoácidos.

La alteración del balance metabólico causada por toxicidad iónica, estrés osmótico y deficiencias nutricionales bajo salinidad pueden favorecer también al estrés oxidativo, mientras que la entrada de  $\text{Na}^+$  a través de canales iónicos no específicos puede causar la despolarización de la membrana que activa los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  y esto genera oscilaciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y señales de estrés salino.

Aunque todas las plantas han desarrollado mecanismos de tolerancia a diferentes tipos de estrés, sólo las plantas halófitas pueden sobrevivir y crecer en extrema salinidad, ya que poseen proteínas específicas que ayudan a disminuir los efectos de la salinidad. Para superar los efectos dañinos del estrés osmótico, las halófitas realizan modificaciones en su fisiología y anatomía siguiendo una serie de mecanismos que les permiten mantener o restablecer una actividad metabólica adecuada tales como: la regulación de agentes oxidantes, la sobreexpresión de factores de transcripción, la regulación en el transporte de agua a través de la membrana, modificaciones en la pared celular, la biosíntesis de osmoprotectores y la compartimentalización del sodio.

La salinidad tiene varios efectos sobre las plantas, por ejemplo, en la fotosíntesis existe una reducción del área foliar, en el contenido de clorofila, en la conductancia estomática, y una disminución de la eficiencia del fotosistema II. También influye en el ciclo y la diferenciación celular ya que los detiene temporalmente reduciendo la expresión y actividad de ciclinas y proteínas quinasa, lo que trae como resultado menos células en los meristemas, y un crecimiento limitado. Todo esto genera un desequilibrio nutritivo debido a la reducción del potencial hídrico del suelo, causado por la elevada concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  y la disminución en la disponibilidad de agua.

## Respuesta de las plantas ante salinidad

De acuerdo con su tolerancia a la salinidad, las plantas se pueden clasificar en dos grupos: 1) las halófitas, que toleran altas concentraciones de sales, y 2) las glicófitas que no toleran la presencia excesiva de sales. Existen categorías intermedias entre ambos grupos como son las pseudohalófitas que son plantas que, sin ser halófitas, requieren sodio como elemento esencial. La sensibilidad de las plantas a las sales varía durante el desarrollo fenológico, dependiendo de la especie, el cultivar y factores ambientales.

Para superar los daños del estrés por salinidad, algunas plantas tienen que hacer cambios en su fisiología y anatomía que les permitan restablecer la actividad metabólica adecuada. Entre estos procesos está la compartimentalización del sodio en las vacuolas, la sobreexpresión de FTs, la regulación en el transporte de agua a través de la membrana, las modificaciones en la pared celular y la biosíntesis de osmoprotectores. Los osmoprotectores son compuestos de bajo peso molecular también llamados solutos compatibles, debido a que no interfieren con las reacciones bioquímicas normales, y se acumulan en el citoplasma para mantener y/o restaurar el balance iónico. Los solutos compatibles incluyen principalmente Prolina (Pro) y glicina betaína (GB). La GB actúa estabilizando la estructura cuaternaria de las proteínas y en su biosíntesis participan los genes codificantes de la S-adenosilmetionina sintetasa (SAMS), fosfoetanolamina metil transferasa (PEAMT), colina monooxigenasa (CMO) y betaína aldehído deshidrogenasa (BADH) (Fig.11.4)

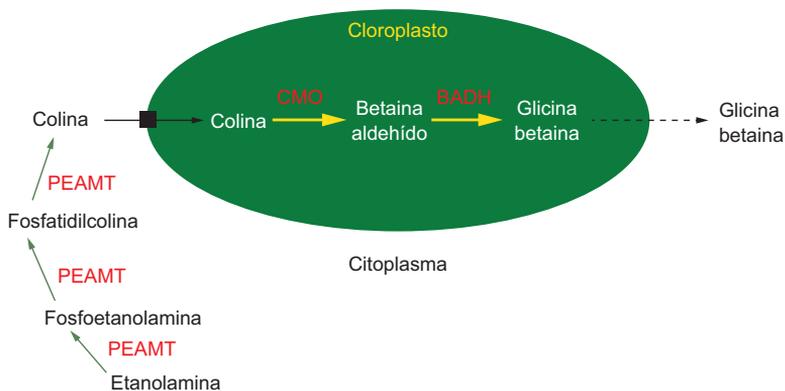


Figura 11.4. Ruta metabólica de la GB. Elaboración propia

A nivel fisiológico, la respuesta adaptativa al NaCl en algunas plantas es altamente visible en términos de sobreexpresión de los genes relacionados con la síntesis de GB. Por ejemplo, en *Suaeda marítima*, se demostró que la expresión a nivel de transcripción de los genes *BADH*, *PEAMT* y *CMO* fue alta a los dos días de tratamiento salino; donde *CMO* fue el gen de mayor regulación

durante la síntesis de GB. Con respecto a PEAMT, el análisis de transcriptoma de *Hordeum vulgare* mostró aumento en su actividad como una respuesta de tolerancia a NaCl. Además de la GB, la Pro es otro de los osmoprotectores que se acumulan en las plantas como respuesta al estrés salino. En su biosíntesis la enzima pirrolina-5-carboxilato sintetasa (P5CS) es la que limita la velocidad de la reacción y es inhibida por Pro (Fig. 11.5).

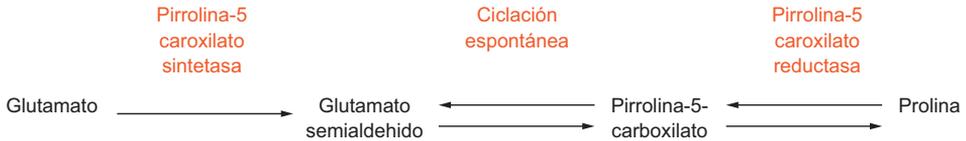


Figura 11.5. Ruta biosintética de la Pro en plantas. Elaboración propia.

Diversos estudios relacionados con la salinidad en plantas como *Oryza australiensis* y *Triticum aestivum* han demostrado la síntesis rápida y la acumulación de Pro libre como estrategia para hacer frente al estrés por salinidad. En otro estudio con *Opuntia streptacantha* bajo estrés por NaCl durante 6, 9 y 11 días, se detectó una disminución del grosor y longitud de la raíz, y una significativa y gradual acumulación de Pro en cladodios jóvenes, dependiente del tiempo y la concentración.

Otros genes que se han encontrado asociados a la tolerancia a salinidad, así como a altas temperaturas y sequía, son los que codifican para varios grupos de proteínas LEA. Por ejemplo, el gen completo Rab16A de arroz que codifica para una proteína LEA tipo 2 fue introducido en plantas de tabaco; estas plantas transgénicas sometidas a altas concentraciones de salinidad, mostraron una acumulación excesiva de la proteína en las hojas respecto a su control. Además, se observó que las líneas transgénicas mostraron un crecimiento y morfología normal, y la germinación de sus semillas mostraron mayor tolerancia a la salinidad con un aumento en la producción de azúcares reductores, prolina y poliaminas. También mostraron una mejor maquinaria antioxidante y un balance mineral más favorable, lo que se reflejó en los reducidos niveles de peróxido de hidrógeno y de peroxidación lipídica, menor pérdida de clorofila, así como menor acumulación de sodio y mayor acumulación de potasio.

Este tipo de adaptación a suelo salino, es también mediado por transporte activo de iones, mediante proteínas selectivas de membrana, para mantener la homeostasis iónica ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{+2}$ ). El transporte del  $\text{Na}^+$  desde el citoplasma

hasta la vacuola, realizado por la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  es dependiente de la actividad V-ATPasa y V-PPasa, estas enzimas establecen un gradiente electroquímico de  $\text{H}^+$  en el tonoplasto que energiza el transporte de  $\text{Na}^+$  contra el gradiente de concentración, y se ha demostrado que el exceso de sodio que queda almacenado en las vacuolas evita los daños en el citoplasma. Esta compartimentación de  $\text{Na}^+$  en las vacuolas es realizada por proteínas selectivas de membrana como la pirofosfatasa inorgánica vacuolar ( $\text{H}^+$ -V-PPasa) y el gen codificante de estas proteínas ha mostrado mayor expresión en las plantas que realizan estos procesos, confiriéndoles mayor tolerancia al estrés salino. Por ejemplo, se ha demostrado que el gen de la pirofosfatasa vacuolar (*VppA*), incrementa significativamente su expresión en plantas de *Suaeda aralocaspica* bajo tratamientos de alta salinidad (500 mM de NaCl). Este tipo de genes actualmente están siendo ya utilizados para generar plantas resistentes a salinidad.

También los TFs y las DREB, relacionados con otros tipos de estrés abiótico, han sido aislados de diferentes especies de plantas y se han utilizado para estudiar la tolerancia al estrés. Recientemente en plantas transgénicas de tabaco transformadas con el gen *DREB* de *Suaeda salsa* (*SsDREB*) mostraron una tolerancia a salinidad; mostrando mejor crecimiento, mayor contenido de clorofila, una tasa neta de fotosíntesis, mayor concentración de prolina y una expresión de genes de respuesta a estrés elevada.

La exposición a salinidad cambia también el estado de agua en las plantas y enciende estrategias de ajuste osmótico y control en la toma y pérdida de agua. En este proceso también participan las proteínas intrínsecas del tonoplasto (TIP por sus siglas en inglés), las cuales forman parte de las llamadas acuaporinas (AQPs), que son proteínas que facilitan el transporte de moléculas de agua a través de la pared celular. Al respecto se ha demostrado que el gen *TIP1* proveniente de la planta halófito *Panax ginseng* y al utilizarse como transgén en otras plantas aumenta la tolerancia a salinidad.

Otra respuesta al estrés osmótico que causa la salinidad en las plantas es la modificación en la pared celular, esta le permite a la célula extenderse gracias a un grupo importante de proteínas llamadas expansinas. Las expansinas hidrolizan los enlaces entre las microfibras de celulosa de la pared celular para incrementar la movilidad de los polímeros que forman la matriz; la sobreexpresión de los genes que las codifican ha sido demostrada en correlación directa con el crecimiento saludable de halófitos como *Suaeda maritima* y *Suaeda glauca* desarrollándose en medio salino.

En los procesos de tolerancia a estrés salino, las plantas halófitas representan un excelente modelo de estudio, ya que son capaces de sobrevivir y reproducirse en sitios con concentraciones superiores a 200 mM de NaCl, lo que las hace fuentes potenciales de genes de resistencia a salinidad. Sin embargo, el número de halófitas se reduce aproximadamente al 1 % de la flora mundial.

## Identificación de genes al estrés abiótico en *Suaeda edulis*: un caso de estudio

La familia de las Amarantáceas, integra halófitas suculentas que son “altamente tolerantes” a la sal, destacando las especies de los géneros *Suaeda* y *Salicornia*, ya que algunas de sus especies diluyen la sal en sus raíces y hojas y han sido utilizadas como modelo para análisis de genes de respuesta a estrés salino.

El género *Suaeda* Forssk. ex Scop., pertenece a la subfamilia Suaedoidae Ulbr. de la familia Chenopodiaceae y alberga alrededor de 110 especies, casi todas, halófitas. Particularmente, *Suaeda edulis* es una planta halófitas que se encuentra en lagos salinos del centro de México. En el municipio Valle de Santiago, Gto., se encuentra el Cráter de la Hoya en Rincón de Parangueo (Fig. 11.7a-b). Las características del cráter son afloramientos rocosos, ígneos y vegetación de bosque tropical caducifolio y con regiones de suelo sódico-salino, formado por la acumulación de NaCl y carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )/ bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) con un pH que se eleva a más de 9.0. En este tipo de suelos el porcentaje de sodio intercambiable es mayor a 15 y su estructura, permeabilidad y aireación se ven afectadas limitando e impidiendo el crecimiento de los cultivos por su alto contenido de sodio intercambiable y sales solubles.

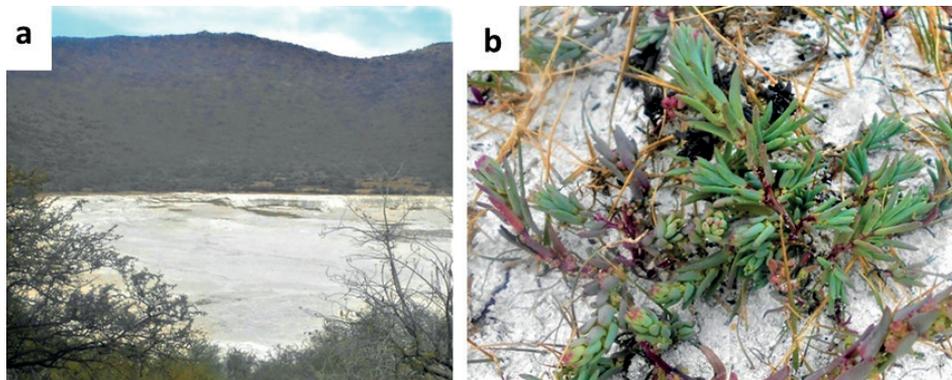


Figura 11.6. Hoya Rincón de Parangueo en Valle de Santiago, Guanajuato, Mex. a) Vista panorámica del cráter, b) *S. edulis* en su hábitat natural.

Por lo que se realizó un estudio en *S. edulis* para su propagación *in vitro* y analizar la presencia y expresión de algunos genes relacionados con la tolerancia a la salinidad.

Para llevar a cabo esta investigación, se colectaron muestras de *S. edulis* y se establecieron protocolos para la propagación de cultivos *in vitro* y de extracción de ácidos nucleicos y de estudios de expresión de los genes. También se realizó un estudio para determinar los minerales presentes raíz, follaje de la planta, y de muestras de suelo del cráter, mediante cromatografía de gases en el Laboratorio de Análisis de Suelo, Agua y Nutrientes Vegetales de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

La cantidad de sodio detectada en la parte aérea fue casi cuatro veces mayor que la que se detectó en la raíz, lo que refleja la resistencia de la planta a la salinidad más que a sequía. Esto es interesante por el hecho de que el lago-cráter que habita *S. edulis* ha sido ya catalogado como un lago sódico por su composición iónica, predominando en él los carbonatos y bicarbonatos de sodio tal como lo reflejan los resultados del análisis de suelo en este trabajo, en los que se indican valores de pH y conductividad eléctrica elevados que lo clasifican como suelo salino y altamente alcalino.

Los protocolos de propagación *in vitro*, fue con el propósito de mantener a *S. edulis* como modelo de estudio sin provocar disturbios de su hábitat natural, y de allí tomar el material vegetal para análisis de expresión génica entre

las plantas desarrolladas *in vitro* bajo distintas condiciones, y las tomadas directamente del cráter.

Unos de los problemas que se obtuvieron durante la propagación fue la excreción de compuestos fenólicos que oscurecían por completo el medio de cultivo e impedían el desarrollo del explante (Fig. 11.7), sin embargo, se logró implementar un protocolo de propagación *in vitro* a partir de yemas axilares

Respecto al estudio genético, la extracción de ácidos nucleicos fue probando distintos protocolos, hasta obtener ADN puro (Fig.11.8). A partir del ADN y ARN de *S. edulis* se llevó a cabo el análisis de identificación y expresión de los genes SAMS, CMO, BADH y P5CS, que participan en la biosíntesis de los osmoprotectores Pro y GB.

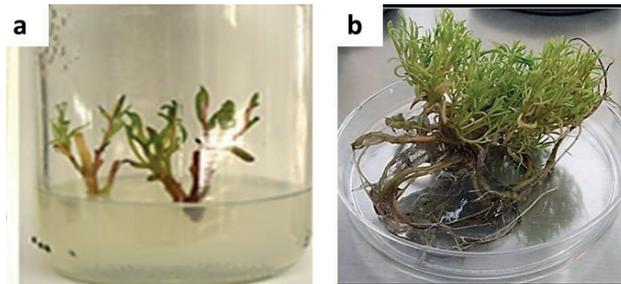


Figura 11.7. Establecimiento *in vitro* y micropropagación de *S. edulis*. a) Plántulas dentro del medio de cultivo Murashige & Skoog. b) Plántulas tomas del cultivo *in vitro*.

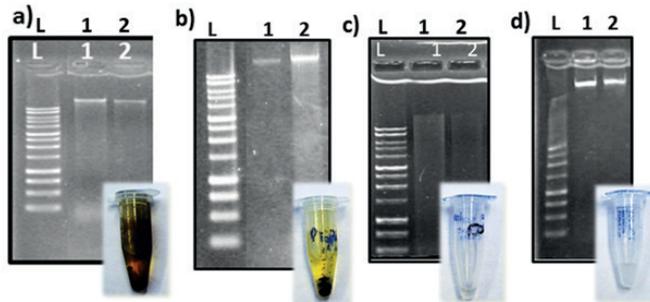


Figura 11.8. ADN genómico de *S. edulis*. a-d) Electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % del ADN extraído mediante distintos métodos hasta obtener ADN puro. Carril L= 1 kb ADN Ladder. 1 y 2 = réplicas del ADN genómico de *S. edulis*.

## Protocolos

### Extracción de ADN en *S. edulis*

1. Colocar 100 mg de tejido en un tubo para microcentrífuga de 1.5 mL pulverizado en nitrógeno líquido, 25 mg de Polivinil polipirrolidona (PVPP) y 500  $\mu$ L del buffer de extracción (100 mM de Tris Cl, 20 mM de EDTA, 1.4 M de NaCl, 2 % de CTAB y 0.2 % de  $\beta$ -mercaptoetanol) recién preparado y precalentado a 65 °C.
2. Homogenizar por inversión y colocar a 65 °C por 30 min mezclando paulatinamente durante el tiempo de incubación.
3. Agregar un volumen de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1).
4. Incubar la mezcla a temperatura ambiente por 30 min, agitando paulatinamente durante el tiempo de incubación.
5. Centrifugar durante 15 min a 12 000 rpm y transferir la fase superior a un tubo nuevo con un volumen de isopropanol frío.
6. Incubar a 20 °C por 30 min y luego centrifugar durante 15 min a 12 000 rpm.
7. Lavar la pastilla de ADN con etanol al 70 %
8. Disolver el ADN en 30  $\mu$ L de buffer TE y 1  $\mu$ L de RNasa.
9. Incubar la mezcla a 37 °C toda la noche.
10. Agregar un volumen igual de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1).
11. Centrifugar a 8 000 rpm por 15 min y transferir la fase acuosa a un nuevo tubo.
12. Agregar un volumen de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) y centrifugar a 12 000 rpm durante 15 min.
13. Colocar la fase superior en un tubo nuevo y agregar un volumen de etanol absoluto.
14. Agregar un décimo de acetato de amonio 7.5 N considerando el volumen total final.
15. Colocar los tubos a -20 °C por 30 min y luego centrifugarlos por 15 min a 12 000 rpm.
16. Dejar secar la pastilla de ADN a temperatura ambiente y posteriormente resuspender en 30 mL de agua estéril.

## Abreviaturas

ABA: ácido abscísico  
ABF: factor de unión a AREB  
AQP: acuaporina  
AREB: elemento de respuesta y unión a proteínas ácidas  
BADH: betaína aldehído deshidrogenasa  
CMO: colina monooxigenasa  
CTAB: bromuro de cetrimonio  
DREB: elementos sensibles a deshidratación  
EDTA: ácido etilendiaminotetraacético  
EROS: especies reactivas de oxígeno  
FT: factor de transcripción  
GB: glicina betaina  
HSF: factores de transcripción de choque térmico  
HSP: proteínas de choque térmico  
H<sup>+</sup>-V-PPasa: pirofosfatasa inorgánica vacuolar  
LEA: proteínas abundantes en embriogénesis tardía  
PEAMT: fosfoetanolamina metil transferasa  
PINE: proteína intrínsecamente desordenada  
Pro: prolina  
PVPP: Polivinil polipirrolidona  
P5CS:  $\Delta^2$ -pirrolina-5-carboxilato sintetasa  
SAMS: S-adenosilmetionina sintetasa  
TIP: proteínas intrínsecas del tonoplasto  
Vppa: pirofosfatasa vacuolar

## Glosario

Abiótico: componentes de un ecosistema que no tienen vida, pero influyen en los seres vivos que forman parte de él.  
Afloramiento: surgimiento de rocas del interior de la tierra hacia la superficie.  
Arborescente: que por su forma o aspecto recuerda a un árbol.  
Aspersión: modalidad de riego mediante la cual el agua llega a las plantas en forma de “lluvia” localizada.

Biótico: de los organismos vivos o relacionado con ellos.

Caducifolio: que pierde sus hojas cada año.

Fitohormona: compuesto producido internamente por una planta, que ejerce su función en muy bajas concentraciones y cuyo principal efecto se produce a nivel celular, cambiando los patrones de crecimiento de los vegetales y permitiendo su control.

Flavonoides: pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes.

Fotosistema: complejos proteicos situados en membranas de organismos autótrofos donde se agrupan los pigmentos fotosintéticos.

Ígneo: proceso que se producen por enfriamiento sobre la superficie terrestre.

Meristemos: grupos de células indiferenciadas responsables del crecimiento permanente de las plantas debido a que tienen una alta capacidad de división celular y posteriormente pueden diferenciarse en una gran variedad de tipos celulares.

Peroxidación: serie compleja de reacciones químicas que causan la descomposición de las grasas y los aceites (peroxidación lipídica).

Splicing: corte de intrones y unión de exones para producir ARN mensajero maduro capaz de salir del núcleo hacia el citoplasma y ocurra la síntesis de proteínas.

Tonoplasto: membrana que delimita la vacuola central en las células vegetales.

Transgénico: generado artificialmente mediante ingeniería genética con mezcla de DNA de otros organismos en sus genes.

Xantofila: pigmento fotosintético secundario que pertenece al grupo de los carotenoides.

## Bibliografía

Agarwal, P. K., & Jha, B. (2010). Transcription factors in plants and ABA dependent and independent abiotic stress signalling. *Biologia Plantarum*, 54(2), 201-212.

Almeselmani, M., Deshmukh, P. S., Sairam, R. K., Kushwaha, S. R., & Singh, T. P. (2006). Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant science*, 171(3), 382-388.

- Arriaga, L., Espinoza, J. M., Aguilar, C., Martínez, E., Gómez, L., & Loa, E. (2000). Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. *Ciudad de México, México*. Última actualización 26 de junio de 2017. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/Tlistado.html>
- Binzel, M., & Ratajczak, R. (2002). Function of membrane transport systems under salinity: tonoplast. In *Salinity: Environment-Plants-Molecules* (pp. 423-449). Springer, Dordrecht.
- Boudsocq, M., & Lauriere, C. (2005). Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families. *Plant physiology*, 138(3), 1185-1194.
- Cao, J., Lv, X. Y., Chen, L., Xing, J. J., & Lan, H. Y. (2015). Effects of salinity on the growth, physiology and relevant gene expression of an annual halophyte grown from heteromorphic seeds. *AoB Plants*, 7.
- Cao, Y., Xiang, X., Geng, M., You, Q., & Huang, X. (2017). Effect of *HbDHN1* and *HbDHN2* genes on abiotic stress responses in *Arabidopsis*. *Frontiers in plant science*, 8, 470.
- Casierra-Posada, F., Pérez, W. A., & Portilla, F. (2006). Relaciones hídricas y distribución de materia seca en especies de fique (*Furcraea* sp. Vent.) cultivadas bajo estrés por NaCl. *Agronomía Colombiana*, 24(2), 280-289.
- Chamoli, S., & Verma, A. K. (2014). Targeting of metabolic pathways for genetic engineering to combat abiotic stress tolerance in crop plants. In *Approaches to Plant Stress and Their Management* (pp. 23-37). Springer, New Delhi.
- Chaves-Barrantes, N. F., & Gutiérrez-Soto, M. V. (2017). Respuestas al estrés por calor en los cultivos. I. Aspectos moleculares, bioquímicos y fisiológicos. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 237-253.
- Chen, T. H., & Murata, N. (2002). Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current opinion in plant biology*, 5(3), 250-257.
- Da Silva, G. J., & Costa de Oliveira, A. (2014). Genes acting on transcriptional control during abiotic stress responses. *Advances in Agriculture*, 2014.
- Dubouzet, J. G., Sakuma, Y., Ito, Y., Kasuga, M., Dubouzet, E. G., Miura, S., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2003). *OsDREB* genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression. *The Plant Journal*, 33(4), 751-763.

- Etesami, H., & Jeong, B. R. (2018). Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 147, 881-896.
- Fricke, W., & Peters, W. S. (2002). The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology*, 129(1), 374-388.
- Gerszberg, A., & Hnatuszko-Konka, K. (2017). Tomato tolerance to abiotic stress: a review of most often engineered target sequences. *Plant growth regulation*, 83(2), 175-198.
- Ghorbani, R., Mohammadi, S. A., Toorchi, M., & Ghafarian, S. (2018). Transcriptional changes of BFRUCT3, NHX1, OMT and PEAMT genes in root of barley (*Hordeum vulgare* L.) under salinity stress. *Pak. J. Bot.*, 50(2), 735-740.
- Glenn, E. P., Anday, T., Chaturvedi, R., Martinez-Garcia, R., Pearlstein, S., Soliz, D., & Felger, R. S. (2013). Three halophytes for saline-water agriculture: An oilseed, a forage and a grain crop. *Environmental and Experimental Botany*, 92, 110-121.
- Goharrizi, K. J., Baghizadeh, A., Afroushteh, M., Amirmahani, F., & Kermani, S. G. (2020). Effects of salinity stress on proline content and expression of  $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthase and vacuolar-type H<sup>+</sup> subunit E genes in wheat. *Plant Genetic Resources*, 18(5), 334-342.
- Golestan Hashemi, F. S., Ismail, M. R., Rafii, M. Y., Aslani, F., Miah, G., & Muharam, F. M. (2018). Critical multifunctional role of the betaine aldehyde dehydrogenase gene in plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(4), 815-829.
- Guo, S., Yin, H., Zhang, X., Zhao, F., Li, P., Chen, S. & Zhang, H. (2006). Molecular cloning and characterization of a vacuolar H<sup>+</sup>-pyrophosphatase gene, SsVP, from the halophyte *Suaeda salsa* and its overexpression increases salt and drought tolerance of *Arabidopsis*. *Plant molecular biology*, 60(1), 41-50.
- Gupta, K., Jha, B., & Agarwal, P. K. (2014). A dehydration-responsive element binding (DREB) transcription factor from the succulent halophyte *Salicornia brachiata* enhances abiotic stress tolerance in transgenic tobacco. *Marine biotechnology*, 16(6), 657-673.
- Gurudeeban, S., Ramanathan, T., Satyavani, K., & Dhinesh, T. (2011). Standardization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis of *Suaeda* sp. *Asian Journal of Biotechnology*, 3(5), 486-492.

- Hernández Camacho, S., Pérez Molphe Balch, E. M., Alpuche Solís, Á. G., & Morales Domínguez, J. F. (2017). Identification and evolutionary relationships of partial gene sequences from dehydrin group in three species of cacti. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 86: 151–162.
- Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z., & Verma, D. P. S. (2000). Removal of feedback inhibition of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant physiology*, 122(4), 1129-1136.
- Jin, H., Dong, D., Yang, Q., & Zhu, D. (2016). Salt-responsive transcriptome profiling of *Suaeda glauca* via RNA sequencing. *PloS one*, 11(3), e0150504.
- Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., & Singla-Pareek, S. L. (2016). Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1029.
- Khan, W. U. D., Tanveer, M., Shaukat, R., Ali, M., & Pirdad, F. (2020). An overview of salinity tolerance mechanism in plants. *Salt and Drought Stress Tolerance in Plants*, 1-16.
- Kobayashi, F., Ishibashi, M., & Takumi, S. (2008). Transcriptional activation of Cor/Lea genes and increase in abiotic stress tolerance through expression of a wheat DREB2 homolog in transgenic tobacco. *Transgenic Research*, 17(5), 755-767.
- Kuluev, B. R., Berezheva, Z. A., Mikhaylova, E. V., & Chemeris, A. V. (2018). Growth of transgenic tobacco plants with changed expression of genes encoding expansins under the action of stress factors. *Russian Journal of Plant Physiology*, 65(2).
- Kuttan, S., Sankararamasubramanian, H. M., & Parida, A. K. (2018). Choline monooxygenase transcript expression triggers glycine betaine accumulation in *Suaeda maritima* when subjected to a salt concentration optimal for its growth. *bioRxiv*, 314419.
- Kurowska, M. M. (2020). TIP Aquaporins in Plants: Role in Abiotic Stress Tolerance. In *Abiotic Stress in Plants*. IntechOpen.
- Krishnamurthi, S. S., Kuttan, S., Meenakshisundram, S., Nooruddin, T., & Parida, A. (2019). The role of the overexpression of *Suaeda maritima* choline monooxygenase and betaine aldehyde dehydrogenase cDNAs in the enhancement of salinity tolerance in different strains of *E. coli*. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 12(1).

- Li, X., Wang, F., Sun, D., Wang, N., Dong, Y., Liu, W., & Li, H. (2018). Cloning and characterization of SucNHX1, a novel vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter from the halophyte *Suaeda corniculata* that enhances the saline-alkali tolerance in *Arabidopsis* by its overexpression. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 134(3), 395-407.
- Liu, P. L., Du, L., Huang, Y., Gao, S. M., & Yu, M. (2017). Origin and diversification of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase (LRR-RLK) genes in plants. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 1-16.
- Loik, M. E., & Nobel, P. S. (1993). Exogenous abscisic acid mimics cold acclimation for cacti differing in freezing tolerance. *Plant Physiology*, 103(3), 871-876.
- Mohammadi, S. A., Hamian, S., Vahed, M. M., Bandehagh, A., Gohari, G., & Janda, T. (2021). Transcriptional analysis of salt-responsive genes to salinity stress in three salt-tolerant and salt-sensitive Barely cultivars. *South African Journal of Botany*, 141, 457-465.
- Moreno, L. P. (2009). Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía colombiana*, 27(2), 179-191.
- Nguyen, H. T. T., Das Bhowmik, S., Long, H., Cheng, Y., Mundree, S., & Hoang, L. T. M. (2021). Rapid accumulation of proline enhances salinity tolerance in australian wild rice *Oryza australiensis* domin. *Plants*, 10(10), 2044.
- Nobel, P. S., & Zutta, B. R. (2008). Temperature tolerances for stems and roots of two cultivated cacti, *Nopalea cochenillifera* and *Opuntia robusta*: Acclimation, light, and drought. *Journal of Arid Environments*, 72(5), 633-642.
- Noguez-Hernández, R., Carballo-Carballo, A., & Flores-Olvera, H. (2013). *Suaeda Edulis* (Chenopodiaceae), a new species from saline lakes of central México. *Botanical Sciences*, 91(1), 19-25.
- Ochoa-Alfaro, A. E., Rodríguez-Kessler, M., Pérez-Morales, M. B., Delgado-Sánchez, P., Cuevas-Velázquez, C. L., Gómez-Anduro, G., & Jiménez-Bremont, J. F. (2012). Functional characterization of an acidic SK 3 dehydrin isolated from an *Opuntia streptacantha* cDNA library. *Planta*, 235(3), 565-578.
- Peng, Y., Lin, W., Cai, W., & Arora, R. (2007). Overexpression of a *Panax ginseng* tonoplast aquaporin alters salt tolerance, drought tolerance and cold acclimation ability in transgenic *Arabidopsis* plants. *Planta*, 226(3), 729-740.
- Qu, A. L., Ding, Y. F., Jiang, Q., & Zhu, C. (2013). Molecular mechanisms of the plant heat stress response. *Biochemical and biophysical research communications*, 432(2), 203-207.

- Rai, A. K., & Takabe, T. (2006). *Abiotic stress tolerance in plants* (pp. 1-267). Dordrecht, the Netherlands: Springer.
- Reyes, J. L., Rodrigo, M. J., Colmenero-Flores, J. M., Gil, J. V., Garay-Arroyo, A. D. R. I. A. N. A., Campos, F., & Covarrubias, A. A. (2005). Hydrophilins from distant organisms can protect enzymatic activities from water limitation effects in vitro. *Plant, Cell & Environment*, 28(6), 709-718.
- Rhodes, D., & Hanson, A. D. (1993). Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual review of plant biology*, 44(1), 357-384.
- Sahu, B. B., & Shaw, B. P. (2009). Isolation, identification and expression analysis of salt-induced genes in *Suaeda maritima*, a natural halophyte, using PCR-based suppression subtractive hybridization. *BMC Plant Biology*, 9(1), 69.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425.
- Savvides, A., Ali, S., Tester, M., & Fotopoulos, V. (2016). Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible?. *Trends in Plant Science*, 21(4), 329-340.
- Shen, Q., Zhang, P., & Ho, T. H. (1996). Modular nature of abscisic acid (ABA) response complexes: composite promoter units that are necessary and sufficient for ABA induction of gene expression in barley. *The Plant Cell*, 8(7), 1107-1119.
- Shen, Y., Tang, M. J., Hu, Y. L., & Lin, Z. P. (2004). Isolation and characterization of a dehydrin-like gene from drought-tolerant *Boea crassifolia*. *Plant Science*, 166(5), 1167-1175.
- Silva-Ortega, C. O., Ochoa-Alfaro, A. E., Reyes-Agüero, J. A., Aguado-Santacruz, G. A., & Jiménez-Bremont, J. F. (2008). Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant physiology and biochemistry*, 46(1), 82-92.
- SEMARNAT Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación, 31 de diciembre de 2002. México, D. F. <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255.pdf>

- Sunkar, R. (2010). MicroRNAs with macro-effects on plant stress responses. In *Seminars in Cell & Developmental biology* (Vol. 21, No. 8, pp. 805-811). Academic Press.
- Tavares, L. S. C., dos Reis, S. P., Marques, D. N., Tavares, E. J. M., da Cunha Ferreira, S., Coelho, F. M., & de Souza, C. R. B. (2019). Abscisic Acid in Abiotic Stress-responsive Gene Expression. *Molecular Plant Abiotic Stress: Biology and Biotechnology*, 145-184.
- Ventura, Y., & Sagi, M. (2013). Halophyte crop cultivation: the case for *Salicornia* and *Sarcocornia*. *Environmental and Experimental Botany*, 92, 144-153.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), 199-223.
- Wani, S. H., Kumar, V., Khare, T., Guddimalli, R., Parveda, M., Solymosi, K., & Kishor, P. K. (2020). Engineering salinity tolerance in plants: progress and prospects. *Planta*, 251(4), 1-29.
- Yu, Z., Wang, X., & Zhang, L. (2018). Structural and functional dynamics of dehydrins: a plant protector protein under abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3420.
- Zan, Y., Ji, Y., Zhang, Y., Yang, S., Song, Y., & Wang, J. (2013). Genome-wide identification, characterization and expression analysis of populus leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes. *BMC Genomics*, 14(1), 1-14.
- Zhang, C. S., Lu, Q., & Verma, D. P. S. (1995). Removal of feedback inhibition of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase, a bifunctional enzyme catalyzing the first two steps of proline biosynthesis in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 270(35), 20491-20496.
- Xu Zhang, Xiaoxue Liu, Lei Wu, Guihong Yu, Xiue Wang, Hongxiang Ma. (2015) The SsDREB Transcription Factor from the Succulent Halophyte Suaeda salsa Enhances Abiotic Stress Tolerance in Transgenic Tobacco, *International Journal of Genomics*, vol. 2015, 13 pages, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/875497>
- Zhang Y, Yin H, Li D, Zhu W, Li Q. (2008). Functional analysis of BADH gene promoter from Suaeda liaotungensis K. *Plant Cell Rep.* 27(3):585-92. doi: 10.1007/s00299-007-0459-8.